

SCREENING FITOQUÍMICO DOS EXTRATOS ALCOÓLICOS DE *Azadiractha indica*

Taís Arthur Corrêa¹
Laiane Pereira Rocha²
Ana Luíza Franco³
Elisângela Aparecida da Silva⁴

Química Ambiental

Resumo

De origem asiática e clima tropical, a *Azadiractha indica* A. Juss é uma planta perene, resistente e crescimento rápido, com diferentes aplicações, dentre elas: sombreadora, planta medicinal e inseticida. O presente trabalho visou caracterizar os metabólitos secundários em extratos etanólicos obtidos por extração à frio das folhas, pecíolos, cascas do tronco, flores, sementes, polpa e casca do fruto. Diferentes classes de compostos foram identificadas na triagem fitoquímica, um exame qualitativo, de baixo custo, que permite uma avaliação rápida e preliminar da presença ou não de metabólitos secundários no material de interesse. O estudo apontou a presença de compostos como alcaloides, flavonoides, taninos e triterpenoides sendo a positividade considerada por formação de espuma, precipitação/turvação, mudança de cor e aparecimento de fluorescência. Outrossim, foi demonstrada a negatividade para esteroides para todas as amostras avaliadas. De acordo com os resultados obtidos, evidencia-se que *A. indica* é uma valiosa fonte de compostos bioativos, apresentando assim propriedades de interesse farmacológico. O estudo serve como subsídio preliminar sobre o conhecimento da composição química sendo assim considerada uma valiosa fonte de compostos bioativos também para utilização na agropecuária.

¹ Profa. Dra. Universidade do Estado de Minas Gerais - Frutal, MG, DCEX, tais.correa@uemg.br

² Discente do Curso de Tecnologia em Alimentos da Universidade do Estado de Minas Gerais, Frutal, MG, laiane.1094208@discente.uemg.br

³ Discente do Programa de Mestrado em Ciências Ambientais da Universidade do Estado de Minas Gerais, Frutal, MG – alfranco285@gmail.com

⁴ Profa. Dra. Universidade do Estado de Minas Gerais – Frutal, MG, DCAB, elisangela.silva@uemg.br

INTRODUÇÃO

As plantas representam uma inesgotável fonte de compostos biotativos e agentes terapêuticos, o que tem contribuído significativamente ao longo dos séculos na manutenção da vida humana (BRASIL, 2006). Com o desenvolvimento da ciência e da tecnologia, a aplicação de plantas vem sendo difundida como alternativa eficaz para solucionar problemas de saúde, uma vez comprovada cientificamente a ação de compostos responsáveis pelas atividades biológicas características, estabelecendo benefícios sociais, ambientais e econômicos (BOTELHO *et al.*, 2007)

O Nim indiano, conhecido cientificamente pelo nome botânico *Azadirachta indica* A. Juss, pertencente à família Meliaceae. É uma planta milenar proveniente do sudeste da Ásia e do subcontinente indiano, perene, crescimento rápido, resistente à seca e a altas temperaturas. Considerada uma árvore de grande porte e clima tropical está presente em diferentes partes do mundo, inclusive no Brasil. Possui uma copa a de folhagem verde escuro, muito usada para arborização urbana, como quebra-vento e sombra (MORAES *et al.*, 2006).

Relatos na literatura têm exibido variedades de aplicações farmacológicas e medicinais como, antissépticas, anti-inflamatória, gastroprotetora, hepatoprotetora, antifúngica, antibacteriana e hipolipidêmica (CHATTOPADHYAY, 1999; BISWAS *et al.*, 2002; DAS NEVES *et al.*, 2003; SALEEM *et al.*, 2018), com isso agindo em vários tipos de enfermidades como, por exemplo, hanseníase, malária, desordens respiratórias, sífilis crônica, úlceras, gengivites e infecções de pele (MOSSINI & KEMMELMEIER, 2005; DA SILVA NETO *et al.*, 2020).

De forma geral, os efeitos benéficos do Nim podem ser atribuídos a um ou mais compostos fitoquímicos, presentes em partes da planta (semente, folhas, casca, flores e frutos), como: flavonoides, terpenoides, antraquinonas, taninos, alcaloides, entre outras classes de substâncias (SIDDIQUI *et al.*, 2004; SUBAPRIYA & NAGINI, 2005), o que corrobora com a necessidade de serem constantemente investigados.

A elucidação dos principais grupos de constituintes químicos que compõe o

Realização

Apoio

extrato vegetal e/ou o óleo, pode ser realizada por triagem fitoquímica, constituindo-se de um exame qualitativo, de baixo custo, que permite uma avaliação rápida e preliminar da presença ou não de metabólitos secundários no material de interesse, através de testes colorimétricos ou de precipitação. Entretanto, ressalta-se que apesar dos compostos bioativos terem a possibilidade de estar presentes em toda a planta, sua concentração e facilidade de extração pode variar de acordo com a parte estudada, época da coleta e o método/solvente de extração empregados (SIMÕES, 2019).

Ressalta-se também que os metabólitos podem ter variação da composição química devido aos efeitos do ecossistema. Assim como todas as plantas que são exploradas para um propósito científico, o Nim também apresenta condições específicas de plantio, cultivo, preparo e tratamento, garantindo manutenção do controle de qualidade do princípio ativo e propiciar um melhor aproveitamento da sua composição (DO BRASIL, 2001).

Considerando a adaptação do Nim às condições de clima e solo do Cerrado brasileiro, esta espécie torna-se uma opção disponível para pequenos produtores rurais que buscam alternativas para o controle de pragas em áreas agrícolas. Com o plantio e cultivo de algumas árvores nas propriedades é possível auxiliar o produtor na obtenção de extratos que poderão atender suas necessidades (CORRÊA *et al.* 2022).

Diante do exposto, o presente trabalho visa apresentar o estudo fitoquímico da espécie *Azadirachta indica*, considerando a espécie introduzida no município de Frutal-MG, inserida no Triângulo Mineiro, por meio da investigação qualitativa da presença de grupos de metabólitos secundários das folhas, pecíolos, cascas do tronco, flor, fruto (polpa e casca) e semente, empregando a prospecção química de seus extratos alcóolicos.

METODOLOGIA

Coleta e identificação do material vegetal

O material vegetal considerado nesta pesquisa (Figura 1) foi obtido de uma árvore de *Azadirachta indica* localizada em área urbana, nas seguintes coordenadas geográficas:

Realização

Apoio

Latitude:-20.039917; Longitude:-48.927333, situada no município de Frutal, Minas Gerais. A coleta de material vegetal foi realizada na parte da manhã nos meses de outubro de 2021 (para folhas com pecíolos, flores e casca do tronco) e janeiro (frutos e sementes) de 2022.

A determinação de espécime foi realizada no mês de março de 2022, por comparação em material tombado no Herbário/BHCB no Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Botânica da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). A identificação do material vegetal como *Azadirachta indica* A. Juss, nome científico validado pelo International Plant Names Index (IPNI), foi confirmada pela M^a. Nayara Couto Moreira.

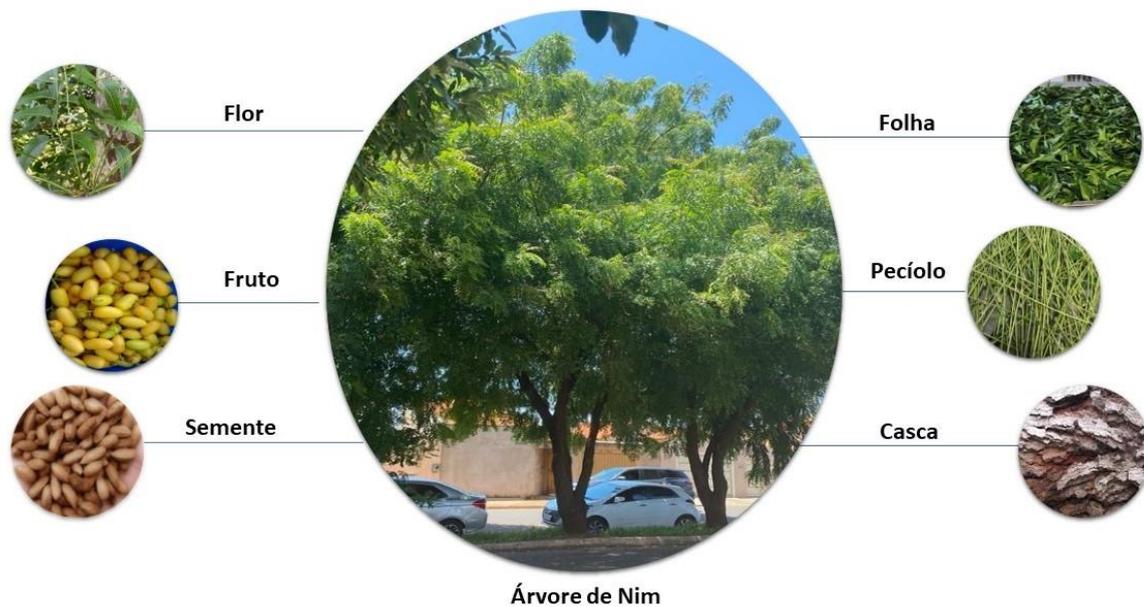


Figura 1. Árvore de Nim selecionada para o estudo e as partes da planta utilizadas para avaliação fitoquímica. Fonte: as autoras (Frutal-MG, 2022)

Extração alcoólica e triagem fitoquímica preliminar

Após a coleta do material vegetal, no laboratório de Ciências Ambientais da UEMG, os mesmos foram higienizados, secos em estufa com circulação de ar forçada a temperatura de 40°C por um período de 2 (folhas, pecíolos, casca e flor) a 4 dias (frutos e

Realização

Apoio

sementes), triturados em moinhos de facas e mantidas em dessecador. As porções de 5 g *A. indica* (Figura 2) foram submetidas à extração à frio por maceração com 50 mL de etanol P.A por 48h, armazenadas em geladeira e envoltos em papel laminado. Após essa etapa, os extratos foram filtrados em papel qualitativo, secos com sulfato de sódio e submetidos à triagem fitoquímica preliminar.

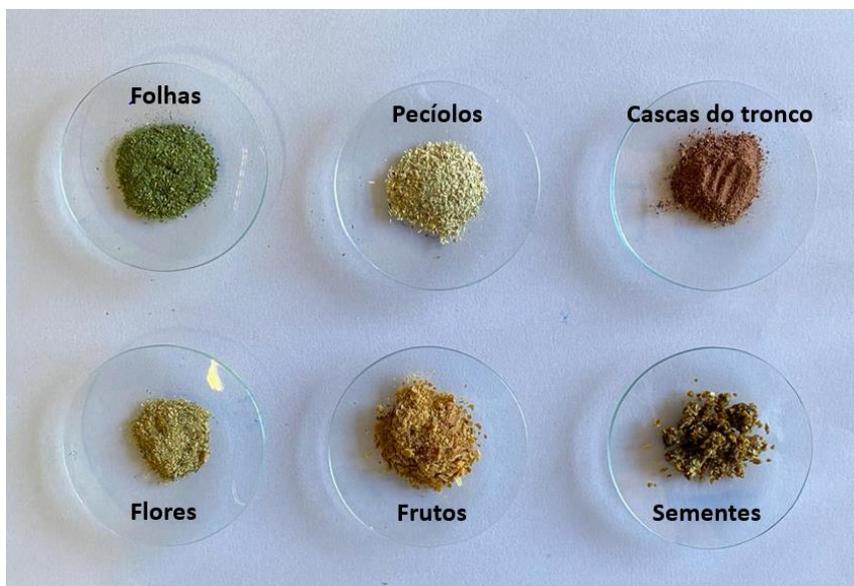


Figura 2. Amostras secas e trituradas do material vegetal empregados para a prospecção química. Fonte: as autoras (Frutal-MG, 2022)

A etapa de prospecção fitoquímica foi desenvolvida nos meses de novembro de 2021 e junho de 2022. Visando evidenciar as principais classes de substâncias químicas (alcaloides, flavonoides, antraquinonas, taninos, triterpenos e esteroides) presentes nos extratos obtidos de diferentes partes da *Azadirachta indica*, foram utilizadas as metodologias adaptadas de Simões *et al.* (2017), Corrêa *et al.* (2022) e Matos (2009), observando a formação de precipitado, mudança de cor e aparecimento de fluorescência, como disposto na Tabela 1.

Neste contexto, as reações de: Liebermann-Burchard; Mayer; Taubouk; Bornträger; além daquelas empregando Cloreto Férrico foram utilizadas neste estudo de triagem fitoquímica.

Tabela 1. Ensaios e resultados positivos esperados para as classes de fitoquímicos analisadas.

Ensaios	Classe de Metabólito	Especificações
Reação de Liebermann-Burchard	Esteroides livres	Coloração azul evanescente seguida de verde permanente
Reação de Liebermann-Burchard	Triterpenoides	Coloração parda à vermelha
Reação de Mayer	Alcaloide	Turvação ou formação de precipitado branco
Reação de Taubouk	Flavonoide	Desenvolvimento de fluorescência de coloração amarelo esverdeada na luz UV
Reagente de Bornträger direta	Antraquinonas	Desenvolvimento de coloração rósea-avermelhada
Reação com Cloreto Férrico	Taninos Gerais	Desenvolvimento de coloração: 1) verde-marrom para taninos condensados; 2) azul-preto para taninos hidrolisáveis

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante a análise fitoquímica foi observada a presença de metabólitos secundários nas diferentes partes da planta testada e em concentrações diferentes, visto a intensidade da precipitação, tonalidade das cores e variação da fluorescência, obtidas na avaliação (Tabela 2).

Os resultados encontrados indicam a presença de alcaloides em todas as partes do material vegetal avaliado, exceto nas cascas do tronco, evidenciada por meio da turvação das soluções proporcionadas pelo teste de Mayer. Essa classe de compostos possuem uma ampla bioatividade com efeitos antiespasmódicos, antitumorais, antialérgicos, estimulantes do Sistema Nervoso Central, analgésicos, controle da pressão sanguínea, além de apresentarem efeitos farmacológicos e importantes agentes terapêuticos e/ou medicinais (FERNANDES *et al.*, 2011).

Realização

Apoio



Tabela 2. Classes de fitoquímicos avaliados nos extratos de *A. indica*.

Metabólitos secundários	Partes de Planta					
	Folhas	Pecíolos	Cascas	Flores	Frutos	Sementes
Alcaloides	+	+	-	+	+	+
Antraquinonas	-	-	+	-	-	--
Taninos gerais	-	-	+	-	-	-
Flavonoides*	+	+	-	+++	NI	+
Triterpenoides*	+	+	-	+	+	++
Esteroides livres	-	-	-	-	-	-

Parâmetros: (+) presente, (-) ausente, NI (Não identificado). *(+) positivo com intensidade da cor clara, (++) positivo com intensidade da cor moderada, (+++) positivo com intensidade da cor forte.

Os testes com Cloreto Férrico apresentaram resultado positivo para taninos condensados apenas para o extrato da casca, com a formação de precipitado de coloração verde. Já os testes para antraquinonas indicaram a presença apenas para as cascas do tronco.

Os taninos condensados são encontrados em diversas famílias do reino vegetal. Estão presentes em consideráveis concentrações em alguns frutos (uvas, maçãs, etc.) e suas bebidas derivadas, no cacau e chocolate (SANTOS-BUELGA & SCALBERT, 2000). Tem sido atribuída a essa classe de compostos diversas ações biológicas, como atividade adstringente, antimicrobiana, antioxidante, farmacológica, inibição enzimática, além de aplicação na agricultura orgânica (NOGUEIRA *et al.*, 2021).

Os testes evidenciaram que os flavonoides estão distribuídos nas diferentes partes da planta, observando resultado positivo para as folhas, pecíolos, flores, frutos e sementes, diante do desenvolvimento de fluorescência de coloração amarelo esverdeada quando colocado sob luz UV. A concentração desse metabólito na planta pôde ser observada diante da variação da intensidade de fluorescência (Figura 3). Galeane (2013) também encontrou flavonoides nas folhas de Nim, destacando que tal classe de compostos é

largamente distribuída nos vegetais superiores (angiospermas), podendo apresentar diversas funções na planta como: proteção contra insetos, micro-organismos; agentes alelopáticos e inibidores de enzimas, o que justifica o fato desta espécie possuir atividades biológicas como anti-inflamatórias, antimicrobianas, antioxidantes, antivirais, entre outras.

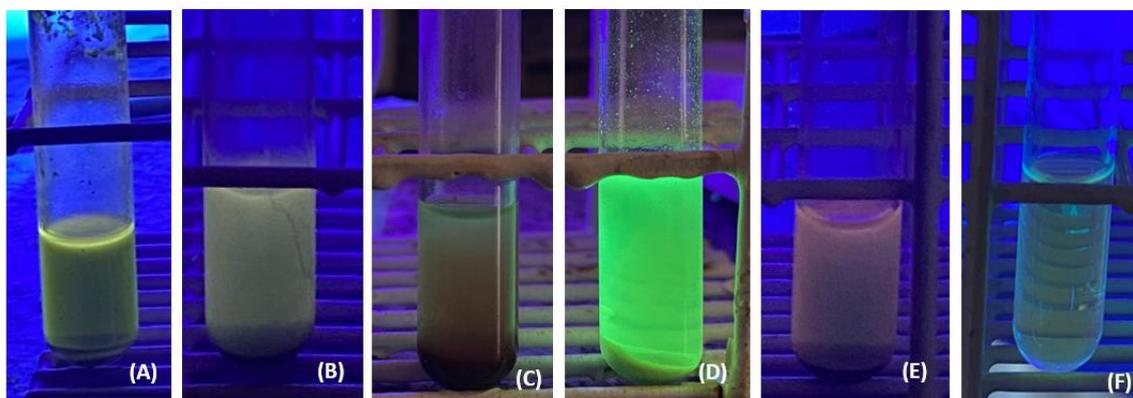


Figura 3. Resultado do teste de Taubouk para os extratos etanólicos das folhas (A), pecíolos (B), cascas do tronco (C), flores (D), frutos (E) e sementes (F). Fonte: as autoras (Frutal-MG, 2022)

Com os testes Liberman-Buchard, foi encontrada a presença de triterpenoides nas folhas, pecíolos, frutos e sementes. Entretanto, diante dos testes realizados, devido a cor desenvolvida, não se verificou uma alta concentração desse metabólito, o que difere de outros trabalhos que evidenciam a forte presença de triterpenoides na *A. indica* (MACIEL *et al.*, 2010, PASSOS *et al.* 2019), principalmente no óleo extraído da semente do Nim. Extratos de sementes e folhas de *Azadirachta indica* são amplamente aplicados como pesticidas e repelentes de insetos, relacionando a eficácia de cada extrato com seu teor de limonoides, azadiractina e análogos (GALEANE, 2013; MORGAN, 2009)

Vale ressaltar que os frutos (polpa e semente) avaliados neste estudo foram colhidos, higienizados e armazenados em congelador até o seu processamento, que foi realizado após 2 meses desse processo. Nesse sentido, acreditamos que possa ter ocorrido degradação de alguns metabólitos secundários como, por exemplo, os triterpenoides. De acordo com Martinez (2002) o despulpamento e secagem das sementes devem ser feitos logo após a colheita, pois esse processo é de fundamental importância

para a conservação do teor de azadiractina e para a qualidade dos produtos que serão obtidos.

Os resultados encontrados corroboram com outros trabalhos da literatura que evidenciam a presença de diferentes classes de metabólitos secundários na *A. indica*, sendo esses responsáveis por resultados animadores no combate a pragas, usos medicinais e ramo da cosmética (DO BRASIL, 2001; MOSSINI & KEMMELMEIER, 2005; DA SILVA NETO *et al.*, 2020).

CONCLUSÃO

Os testes de triagem fitoquímica realizados nos extratos etanólicos das folhas, pecíolos, flores, casca do tronco, frutos e sementes indicaram a presença de cinco classes de metabólitos secundários na espécie. Foi constatada a ocorrência de um maior número de classes de metabólitos secundários nos extratos das folhas, pecíolos, cascas do tronco, flores e sementes, respectivamente, enquanto o extrato dos frutos apresentou apenas duas classes.

Os resultados encontrados justificam o amplo emprego da *Azadirachta indica* na medicina popular, sendo assim considerada uma valiosa fonte de compostos bioativos também para utilização na agropecuária. O estudo contribui como subsídio preliminar sobre o conhecimento da composição química, incentivando trabalhos futuros de isolamento e elucidação estrutural de seus constituintes químicos.

AGRADECIMENTOS

Aos Programas Institucionais da Universidade do Estado de Minas Gerais de Apoio à Pesquisa (PAPq/UEMG) e Produtividade (PQ/UEMG);

Ao Prof. Dr. João Renato Stehmann, curador do herbário BHCb da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

Realização

Apoio

REFERÊNCIAS

- BOTELHO, M. A.; NOGUEIRA, N. A. P.; BASTOS, G. M.; FONSECA, S.G..C.; LEMOS, T. L. G.; MATOS, F. J. A.; MONTENEGRO, J. H.; RAO, V. S.; BRITO, G. A. C. Antimicrobial Activity of the Essential Oil From *Lippia sidoides*, carvacrol and thymol Against Oral Pathogens. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v. 40, p. 349–356, 2007.
- BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica. Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. Brasília: Ministério da Saúde, 2006.
- CHATTOPADHYAY, R. R. Possible mechanism of antihyperglycemic effect of *Azadirachta indica* leaf extract: Part V. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 67, n.3, p. 373-376, 1999.
- CORRÊA, T. A; SILVA, E. A; FRANCO, A. L; ROCHA, L. P. **NIM (*Azadirachta indica*): aspectos fitoquímicos e anatômicos**. In: Fitoquímica: Potencialidades biológicas dos biomas brasileiros, p. 99-115. Maio, 2022.
- DAS NEVES, B. P.; DE OLIVEIRA, I. P.; NOGUEIRA, J. C. M. **Cultivo e utilização do nim indiano**. Embrapa Arroz e Feijão-Circular Técnica (INFOTECA-E), 2003.
- DA SILVA NETO, I. F.; LEITE, I. B.; AGUIAR, A. M. A.; SILVA, M. R. Bioprospecção farmacológica: avaliação fitoquímica do nim indiano (*Azadirachta indica* A. Juss.). **Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management**, v. 16, n. 2, p. 215-226, 2020.
- DO BRASIL, GOVERNO. **Cultivo e usos do nim (*Azadirachta indica* A. Juss)**. Boletim Agropecuário-n. °, v. 68, p. 1-14, 2001.
- FERNANDES, L. M. **Avaliação da atividade genotóxica de extratos e do alcaloide indol-monoterpênico obtidos das raízes de *Galianthe thalictroides* (Rubiaceae)**. Dissertação (Mestrado), Programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, 2011.
- GALEANE, M. C. **Prospecção fitoquímica de ativos em extratos e frações originados de folhas de *Azadirachta indica* A. juss. visando atividade antimicrobiana**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, São Paulo, 2013.
- MACIEL, M.V.; MORAIS, S.M.; BEVILAQUA, C.M.L.; SILVA, R.A.; BARROS, R.S.;

Realização

Apoio



SOUSA, R.N.; SOUSA, L.C.; MACHADO, L.K.A.; BRITO, E.S.; SOUZA-NETO, M.A. Atividade Inseticida in Vitro do Óleo de Sementes de Nim Sobre *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v.19, n.1, p. 7-11. 2010.

MARTINEZ, S. S. **O Nim – *Azadirachta indica* – natureza, uso múltiplos e produção**. Londrina: IAPAR, 142p, 2002.

PASSOS, M. S.; SAMYRA, A. R. C.J.; VIRGENS, B. L. L. G.; CALIXTO, S. D. C.; LOPES, T.; VENTURA, B.; LASSOUNS, E.; BRAZ-FILHO, K. R.; VIEIRA, C. I. J. Terpenoids isolated from *Azadirachta indica* roots and biological activities. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.29, p.40–45, 2019.

MATOS, J. A. Introdução a fitoquímica experimental. 3.ed. Fortaleza: Edições UFC, cap. 4, 2009.

MORAES, A. R. A.; MAY, A.; LOURENÇÃO, A. L.; PINHEIRO, M. Q. 2006. **NIM (*Azadirachta indica* A. Juss)**. Campinas: IAC. 10p. Disponível em: https://www.iac.sp.gov.br/imagem_informacoestecnologicas/12.pdf. Acesso 23 de julho de 2022.

MORGAN, E. D. Azadirachtin, a scientific gold mine. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 17, p. 4096-4105. 2009.

MOSSINI, S. A. G.; KEMMELMEIER, C. A árvore Nim (*Azadirachta indica* A. Juss): Múltiplos Usos. **Acta Farm. Bonaerense**, v. 24, n.1, p.139- 148, 2005.

NOGUEIRA, A. J. L.; SEREJO, A. P. M.; DIAS, A. A. S.; COUTINHO, D. F. **TANINOS: UMA REVISÃO**. In: Tópicos Integrados em Botânica. Jesus Rodrigues Lemos, capítulo 4, p.32 a 43, 2021.

SALEEM A.B.; DIAMANTI E.M.; FOURNIER J.; HARRIS K.D.; CARANDINI M. Coherent encoding of subjective spatial position in visual cortex and hippocampus. **Nature**. 562(7725), p.124-127, 2018.

SANTOS-BUELGA, C. E SCALBERT, A. Proantocianidinas e compostos semelhantes a tanino: natureza, ocorrência, ingestão dietética e efeitos na nutrição e saúde. **Journal of Science Food and Agriculture**, v. 80, p.1094-1117, 2000.

SIDDIQUI, B. S. F.; AFSHAN, T.; GULZAR, R.; SULTANA, S. N.; NAQVI, R. M. Tetracyclic triterpenoids from the leaves of *Azadirachta indica*. **Fytochemistry**. v. 65, n. 16, p. 2363-2367, 2004.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed,

Realização

Apoio



2017, 486p.

SIMÕES, C. M. O., SCHENKEL, E. P., MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. **Farmacognosia:**
do produto natural ao medicamento. Artmed Editora, 2019.

SUBAPRIYA, R.; NAGINI, S. Medicinal properties of neem leaves: a review. **Current
Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents**, v. 5, n. 2, p. 149-156, 2005.

Realização



Apoio

